



TITLE:

# Homeobox A4 Suppresses Vascular Remodeling as a Novel Regulator of YAP/TEAD Transcriptional Activity( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Kimura, Masahiro

---

CITATION:

Kimura, Masahiro. Homeobox A4 Suppresses Vascular Remodeling as a Novel Regulator of YAP/TEAD Transcriptional Activity. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-05-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22641>

RIGHT:

許諾条件により本文は2021-03-01に公開

京都大学	博士（医学）	氏 名	木 村 昌 弘
論文題目	Homeobox A4 Suppresses Vascular Remodeling as a Novel Regulator of YAP/TEAD Transcriptional Activity (ホメオボックス A4 は YAP/TEAD 転写活性の新規制御因子として、血管リモデリングを抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>血管リモデリングは、血管構成細胞の過剰増殖により、新生内膜形成から内腔狭窄をきたした状態をいう。血管平滑筋細胞は炎症刺激や血管障害により、収縮遺伝子を高発現する「収縮型」から増殖能亢進・細胞外器質を産生する「合成型」へ形質転換する。近年 Hippo シグナルの中心分子である YAP/TEAD 転写因子複合体がこの形質転換を誘導し、血管リモデリング形成に重要であると報告された。しかしながら、血管平滑筋細胞における YAP/TEAD の制御機構は未解明であり、今回 shRNA スクリーニングによる網羅的解析にて、血管平滑筋細胞における YAP/TEAD 新規抑制分子を同定することを目的とした。</p> <p>まず、YAP/TEAD 活性に応じて GFP 強度が変化するレポーター細胞 (HEK293T 由来) を構築し、レンチウイルス型 shRNA ライブラリを用いて、ノックダウンにより YAP/TEAD 活性が上昇するような分子を探索した。複数の候補遺伝子の中から、最もノックダウンによりレポーター活性を上昇させた HOXA4 に注目した。スクリーニング結果の確認のため、HEK293T 細胞で HOXA4 をノックダウンすると YAP/TEAD 下流の代表的な増殖関連遺伝子である CTGF, CYR61, ANKRD1 の遺伝子発現が亢進した。</p> <p>HOXA4 はホメオティック (HOX) 遺伝子群に含まれる転写因子である。HOX 遺伝子は胎生期の器官形成に重要であるが、近年成体においても一部の HOX 遺伝子では細胞・臓器特異的に発現が維持され、様々な疾患形成に関わると報告されている。マウスにおける HOXA4 発現を調べると動脈で多く検出され、ヒトの大動脈検体を用いた染色にて、血管平滑筋細胞で HOXA4 陽性を確認した。ヒト血管平滑筋細胞で HOXA4 をノックダウンさせると、CTGF, CYR61, CCND1 などの増殖関連遺伝子の発現増加や、BrdU 取り込みで評価される細胞増殖能を亢進させた一方で、aSMA, SM22a, Calponin など平滑筋収縮遺伝子の発現は減少しており、血管平滑筋細胞の形質転換が促進していた。これらの表現型は YAP あるいは TEAD の同時ノックダウンによりレスキューされることから、血管平滑筋細胞において HOXA4 は YAP/TEAD による形質転換を抑制すると考えられた。</p> <p>YAP の細胞内局在は Hippo シグナルによるリン酸化により制御され、リン酸化部位変異体 (YAP-5SA) は常に核に留まるが、HOXA4 による YAP/TEAD 標的遺伝子抑制は YAP-5SA の強制発現下でも認められ、Hippo シグナルとは独立した機構と考えられた。このため HOXA4 は核内で直接 YAP/TEAD と相互作用するという仮説を立て検証した。共免疫沈降法により HOXA4 は TEAD と複合体を形成し、さらに HOXA4-TEAD 結合に依存して YAP-TEAD の結合が減少することを証明した。クロマチン免疫沈降法の結果から、標的遺伝子上の TEAD コンセンサス配列への HOXA4 と YAP の結合は互いに競合的であり、これは HEK293T 細胞および血管平滑筋細胞で共通してみられるメカニズムであった。さらに、生体での HOXA4 の働きを調べるため、HOXA4 の全身ノックアウト(KO)マウスを作製した。頸動脈結紮による血管リモデリングを誘導すると、HOXA4-KO マウスで新生内膜形成の増悪と、同部での血管平滑筋細胞の形質転換亢進を認めた。以上より、HOXA4 は YAP/TEAD の転写活性抑制を介して血管平滑筋細胞の形質転換を制御することで、血管リモデリング抑制に寄与しているものと考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)			
<p>Hippo シグナルは臓器サイズの制御に重要であり、その最下流において、転写コアクチベータの YAP は転写因子 TEAD とともに、細胞増殖に関わる遺伝子群の発現を上昇させ、細胞増殖を起こすことが知られている。しかしながら、それらを調節する因子についての知見は十分ではない。本研究では、YAP/TEAD 転写活性を指標に shRNA による網羅的スクリーニングを行い、YAP/TEAD の新規抑制因子として、胎生期に体節形成を司る遺伝子である HOXA4 を同定した。HOXA4 の発現は血管平滑筋細胞で多く、ヒト血管平滑筋細胞で HOXA4 を阻害すると、YAP/TEAD 下流遺伝子の発現亢進と平滑筋収縮遺伝子の発現低下を認め、細胞増殖能が亢進した。これらの変化は HOXA4 による YAP/TEAD 阻害を介した、血管平滑筋細胞の病的形質転換の抑制によるものであった。そのメカニズムとして、HOXA4 が核内で YAP と競合的に TEAD と結合することで、YAP/TEAD 転写活性を抑制することを示した。HOXA4 欠損マウスでは、頸動脈結紮後の新生内膜形成が増悪し、血管平滑筋細胞の形質転換が亢進しており、生体においても HOXA4 が血管障害時における血管平滑筋細胞の分化維持に寄与していることが明らかとなった。</p> <p>以上の研究は血管リモデリングの新たな分子機序の解明に貢献し、今後の血管平滑筋を標的とした治療法の探索に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和2年4月10日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降			